



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.03.009  
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2018.03.009  
Chinese Journal of General Surgery, 2018, 27(3):321-327.

· 基础研究 ·

## 下调 G 蛋白信号调控因子 2 表达对胰腺癌细胞化疗敏感性的影响

郑伟, 张建新, 谭克, 陈思澈, 范逸怡, 党胜春

(江苏大学附属医院 普通外科, 江苏 镇江 212001)

### 摘要

**目的:** 探讨下调 G 蛋白信号调控因子 2 (GPSM2) 表达对胰腺癌细胞化疗敏感性的影响。

**方法:** 构建 GPSM2 低表达的胰腺癌 MIA-PaCa-2 细胞并鉴定; 将 16 只裸鼠随机均分为两组, 分别皮下接种 GPSM2 低表达与自然表达的 MIA-PaCa-2 细胞构建荷瘤模型, 两组中分别一半注射吉西他滨 (100 mg/kg), 一半注射等体积生理盐水 (腹腔注射, 3 次/周, 共注射 4 周), 绘制瘤体生长曲线, 并于末次注射后第 3 天处死裸鼠, 测量肿瘤体积。

**结果:** 成功构建 GPSM2 表达下调的 MIA-PaCa-2 细胞。移植瘤的生长速度与体积大小的趋势均表现为 GPSM2 自然表达 + 生理盐水组 > GPSM2 自然表达 + 吉西他滨组 > GPSM2 低表达 + 生理盐水组 > GPSM2 低表达 + 吉西他滨组。析因设计分析结果显示, 单独吉西他滨或单独下调 GPSM2 基因表达对于抑制裸鼠瘤体生长的主效应均具有统计学意义 (均  $P=0.000$ ); 吉西他滨联合下调 GPSM2 基因表达对于抑制裸鼠瘤体生长的交互效应尚未达到统计学意义 ( $P=0.073$ ); 但吉西他滨联合下调 GPSM2 基因表达对于肿瘤生长的抑制作用相对于单独吉西他滨或单独下调 GPSM2 基因表达的单独效应均有统计学意义 ( $P=0.000$ 、 $0.003$ )。

**结论:** 下调 GPSM2 基因表达是否有增强胰腺癌细胞化疗敏感性的作用尚不确定, 但下调 GPSM2 基因表达的同时予以化疗对胰腺癌生长的抑制效果明显强于两者单独作用。

### 关键词

胰腺肿瘤; RGS 蛋白质类; 化疗; 异种移植模型抗肿瘤试验  
中图分类号: R735.9

## Effect of down-regulating G protein signal regulating protein 2 expression on chemotherapy sensitivity of pancreatic cancer cells

ZHENG Wei, ZHANG Jianxin, TAN Ke, CHEN Sicke, FAN Yiyi, DANG Shengchun

(Department of General Surgery, the Affiliated Hospital, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

### Abstract

**Objective:** To investigate the effect of down-regulating G protein signal regulating protein 2 (GPSM2) expression on chemotherapy sensitivity of pancreatic cancer cells.

**Methods:** The pancreatic cancer MIA-PaCa-2 cells with low GPSM2 expression were constructed and identified.

**基金项目:** 江苏省六大高峰人才计划资助项目 (WSN-007)。

**收稿日期:** 2017-12-25; **修订日期:** 2018-02-19。

**作者简介:** 郑伟, 江苏大学附属医院住院医师, 主要从事胰腺疾病基础与临床方面的研究。

**通信作者:** 党胜春, Email: dscgu@163.com

Sixteen nude mice were equally randomized into two groups, and were subcutaneously implanted with MIA-PaCa-2 cells with low GPSM2 expression and MIA-PaCa-2 cells with natural GPSM2 expression to establish the tumor-bearing models. After that, half mice underwent gemcitabine injection (100 mg/kg) and half mice were given saline of the same volume in each group (intraperitoneal injection, 3 times per week for 4 weeks). The tumor growth curves were drawn, and all mice were sacrificed on the third day after the last injection, and the volumes of the tumor xenografts were determined.

**Results:** The pancreatic cancer MIA-PaCa-2 cells with low GPSM2 expression were successfully created. Both growth speed and volume of the tumor xenografts presented a decreasing trend as natural GPSM2 expression plus saline group>natural GPSM2 expression plus gemcitabine group>low GPSM2 expression plus saline group>low GPSM2 expression plus gemcitabine group. The result of factorial design showed that the main effect of either gemcitabine alone or down-regulating GPSM2 gene expression alone on tumor growth inhibition had statistical significance (both  $P=0.000$ ), while the interaction effect of gemcitabine combined with down-regulating GPSM2 gene expression on tumor growth inhibition did not reach a statistical significance ( $P=0.073$ ), but the simple effect of gemcitabine combined with down-regulating GPSM2 gene expression on tumor growth inhibition had statistical significance compared with gemcitabine alone or down-regulating GPSM2 gene expression alone ( $P=0.000$  and  $0.003$ ).

**Conclusion:** Whether down-regulating GPSM2 gene expression will enhance chemotherapy sensitivity of pancreatic cancer cells cannot be confirmed. However, the inhibitory effect of down-regulating GPSM2 gene expression with simultaneous chemotherapy on pancreatic cancer is remarkably greater than that of their single actions.

#### Key words

Pancreatic Neoplasms; RGS Proteins; Chemotherapy; Xenograft Model Antitumor Assays

CLC number: R735.9

胰腺癌是一种临床上常见的恶性肿瘤，其发病特点为起病隐匿、临床症状不典型、肿瘤进展迅速，早期即可出现周围组织器官的转移。使得对于胰腺癌患者的早期诊断显得尤为困难，多数患者确诊时已属于肿瘤晚期，手术切除率仅为10%~15%<sup>[1]</sup>，胰腺癌患者5年的生存率仅为1%~5%<sup>[2-3]</sup>。近年来吉西他滨作为辅助治疗胰腺癌的一线化疗药物，但总体疗效并不理想。根据Dragovich等<sup>[4]</sup>报道，单独静脉使用吉西他滨的临床获益率并不显著，仅为23.8%。中位生存期5.7个月，6个月累计生存率46%，9个月累计生存率24%，中位疾病进展时间2.1个月。这一现象提示胰腺癌细胞可能对抗癌药物具有抗药性，但其中的机制并不清楚。G蛋白信号调控因子2 (G-protein signaling modulator 2, GPSM2) 是一类信号调控因子，其主要作用是介导G蛋白信号转导通路的调控，相关研究<sup>[5]</sup>发现，GPSM2在胰腺癌组织中呈现出高表达，表明高表达的GPSM2对胰腺癌的发生具有促进作用，同时也发现其与

胰腺癌的侵袭及迁移能力有关。本研究通过构建GPSM2敲低表达和自然高表达的胰腺癌裸鼠模型，以吉西他滨作为干扰因素。在一定时间内观察裸鼠模型的瘤体生长情况分析GPSM2的低表达对胰腺癌化疗敏感性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料和试剂

MIA-PaCa-2细胞株，High DMEM基础培养基 (Hyclone公司)，FBS胎牛血清 (GIBCO公司)，双抗 (北京夏斯生物科技有限公司)，胰蛋白酶 (Worthington公司)，转染试剂：Lipofectamine 2000 (Invitrogen公司)，real-time PCR试剂盒 (南京百斯凯科技有限公司1)，TRIzol (南京百斯凯科技有限公司)，RNA溶解液 (南京百斯凯科技有限公司)，DEPC (北京博奥拓达科技有限公司)，DNA凝胶回收试剂盒 (天根生化科技有限公司)，小量抽提试剂盒 (杭州

爱思进生物技术有限公司)。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 构建GPSM2低表达的慢病毒表达载体**  
应用Oligo软件设计引物,正义链:5'-GAT CC-(GN18)-(TTC AAG AGA)-(N18C)-TTT TTT G-3';反义链:3'-G(CN18)-(AAG TTC TCT)-(N18G)-AAA AAA CTT AA-5',合成引物(上海申工合成)。将DNA Oligo分别用TE(pH8.0)溶解,浓度为100 μmol/L。取相应的正义链和反义链Oligo溶液,按配比配置退火反应体系。在PCR仪上进行退火处理,退火处理后得到浓度为10 μmol/L的shRNA模板。将所得模板溶液稀释50倍,终浓度为200 nmol/L,用于连接反应。取10 μg LV3载体,进行酶切处理。37 °C酶切1 h,琼脂糖电泳,使用Agarose Gel DNA Purification Kit Ver 2.0回收,电泳检测估算浓度,稀释浓度至50 ng/μL。进行载体的连接反应后得到GPSM2下调表达的慢病毒表达载体。

**1.2.2 GPSM2下调表达稳转细胞株的构建** MIA-PaCa-2胰腺癌细胞转染前24 h接种于10 cm培养皿中,转染前2 h再换用8 mL High DMEM新鲜培养基(不含抗生素,含10%FBS),转染时细胞融合度为60%~70%。用GPSM2下调表达慢病毒载体转染MIA-PaCa-2细胞株,37 °C、5%CO<sub>2</sub>孵育转染细胞4 h后,换完全培养基。每2天换用含3 μg/mL Puromycin新鲜完全培养基持续培养转染MIA-PaCa-2细胞株45 d。

**1.2.3 GPSM2下调表达稳转细胞株的鉴定** 按TRIzol法分别提取MIA-PaCa-2细胞(空白对照组)、重组慢病毒载体转染的MIA-PaCa-2细胞(shRNA GPSM2转染组)、空载慢病毒载体转染的MIA-PaCa-2细胞(阴性对照组)的总RNA,42 °C逆转录50 min,72 °C预变性10 min,获单链cDNA模板。实时荧光定量反应体系共25 μL,反应程序:95 °C 3 min,95 °C 30 s,55 °C 20 s,72 °C 20 s 40个循环;然后72 °C延伸10 min。采用 $RQ=2^{-\Delta\Delta CT}$ 进行计算GPSM2 mRNA的相对表达量。

**1.2.4 裸鼠成瘤模型的构建** 裸鼠16只,雄性,4~6周龄,18~22 g。随机分两组,每组8只,于无特定病原体(SPF)条件下饲养。本实验所用动物获得了江苏大学动物伦理委员会批准。胰蛋白酶消化处于对数生长期,生长状态良好的GPSM2

低表达与自然表达的MIA-PaCa-2细胞,分别制成 $5 \times 10^6$ /mL细胞悬液,一组用1 mL注射器取0.20 mL GPSM2下调表达的稳转胰腺癌细胞株悬液接种于裸鼠右侧腋窝皮下<sup>[6]</sup>(每只裸鼠接种 $1 \times 10^6$ 个细胞);另一种用1 mL注射器取0.20 mL GPSM2自然表达的稳转胰腺癌细胞株悬液接种于裸鼠右侧腋窝皮下(每只裸鼠接种 $1 \times 10^6$ 个细胞)。接种后于SPF条件饲养2周,按瘤体生长曲线稳定,自发消退率低,裸鼠反应性低、寿命一定,瘤体病理学检测与对应接种细胞一致等条件<sup>[7]</sup>作为裸鼠成瘤模型构建成功标准,并进行下一步实验。

**1.2.5 肿瘤化疗敏感性实验** 构建好的裸鼠成瘤模型进行实验分组:将上述两组裸鼠再各自分为两组。采用腹腔注射的给药方式,一组注射吉西他滨,注射剂量100 mg/kg,另一组注射等体积生理盐水,每周注射3次(每周一、三、五各注射1次),连续注射4周。每周4次用游标卡尺测量并记录各组裸鼠瘤体长径及短径(每周首次注射前及每次注射后24 h),末次注射后第3天取瘤体测量瘤体长径,共测量16次。计算瘤体体积(V)变化, $V=a^2 \times b/2$ (a为瘤体长径、b为瘤体短径),以裸鼠瘤体体积的平均值绘制肿瘤生长曲线。

## 1.3 统计学处理

采用 $RQ=2^{-\Delta\Delta CT}$ 进行计算相对表达量。计量资料实验数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。3组细胞mRNA表达量差异及肿瘤体积差异用单因素方差分析,GPSM2表达与吉西他滨间的交互作用采用析因设计方差分析。SPSS 22.0统计软件进行数据分析,作图用的是Graphpad prism 5软件, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 GPSM2表达下调的稳转细胞株的鉴定

为了验证GPSM2下调表达的稳转细胞株是否构建成功,对各组细胞株的GPSM2 mRNA进行了荧光定量RCP检测,结果显示阴性对照组及空白对照组的GPSM2 mRNA表达量明显高于shRNA GPSM2转染组GPSM2 mRNA表达量,差异有统计学意义(均为 $P=0.000$ ),分别为后者的39.5倍和45.5倍;而阴性对照组与空白对照组之间差异无统计学意义( $P=0.058$ )(图1)。

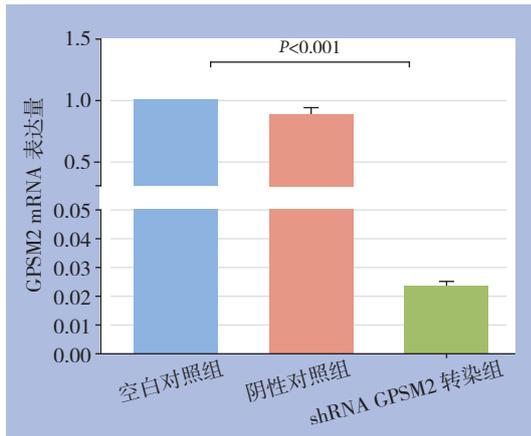


图 1 各组细胞 GPSM2 mRNA 表达量

Figure 1 Expression levels of GPSM2 mRNA in each group of cells

2.2 各组裸鼠瘤体生长形态

各组裸鼠瘤体形态分析显示，GPSM2自然表达+生理盐水组裸鼠的瘤体体积最大，GPSM2自然表达+吉西他滨组瘤体体积稍大于GPSM2低表达+生理盐水组，GPSM2低表达+吉西他滨组瘤体最小（图2）。

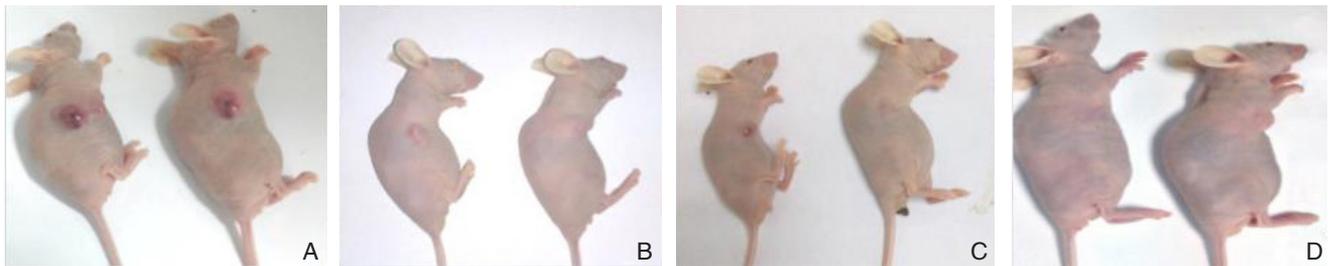


图 2 各组移植瘤大体情况 A: GPSM2 自然表达 + 生理盐水组; B: GPSM2 自然表达 + 吉西他滨组; C: GPSM2 低表达 + 生理盐水组; D: GPSM2 低表达 + 吉西他滨组

Figure 2 The tumor xenografts in each group A: Natural GPSM2 expression plus saline group; B: Natural GPSM2 expression plus gemcitabine group; C: Low GPSM2 expression plus saline group; D: Low GPSM2 expression plus gemcitabine group

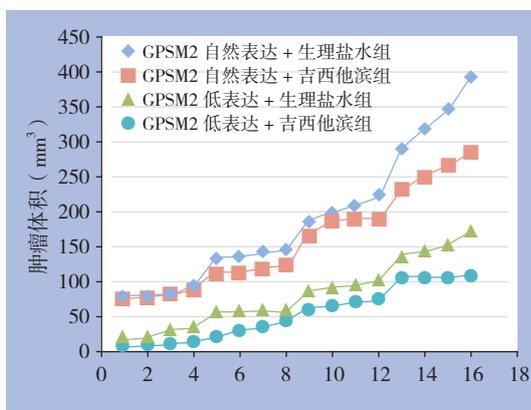


图 3 移植瘤生长曲线

Figure 3 Growth curves of the tumor xenografts

2.3 各组裸鼠瘤体体积变化情况

选取每周首次注射前及每次注射后 24 h（共 4 周）及末次注射后 3 d 取瘤体 16 个时间点，测量并计算瘤体体积，绘制各组裸鼠瘤体的生长曲线。裸鼠瘤体体积生长速度及瘤体体积大小均为：GPSM2 自然表达 + 生理盐水组 > GPSM2 自然表达 + 吉西他滨组 > GPSM2 低表达 + 生理盐水组 > GPSM2 低表达 + 吉西他滨组（图 3）。析因设计方差分析结果示（表 1）：（1）注射吉西他滨对于抑制裸鼠瘤体生长的主效应具有明显意义（ $P=0.000$ ）；（2）抑制 GPSM2 基因表达对于抑制裸鼠瘤体生长的主效应具有明显意义（ $P=0.000$ ）；（3）注射吉西他滨与抑制 GPSM2 基因表达对于抑制裸鼠瘤体生长的交互效应尚未达到明显统计学意义（ $P=0.073$ ）。同时单因素方差分析显示，吉西他滨联合下调 GPSM2 基因表达对于肿瘤生长的抑制作用相对于单独吉西他滨或单独下调 GPSM2 基因表达的单独效应均有统计学意义（ $P=0.000、0.003$ ）。

表 1 各组裸鼠瘤体体积及统计学分析结果

Table 1 The tumor volume and statistical analysis of the nude mice were analyzed

组别	瘤体体积 (mm <sup>3</sup> )
GPSM2 自然表达 + 生理盐水组	394.40 ± 38.08
GPSM2 自然表达 + 吉西他滨组	285.86 ± 22.72
GPSM2 低表达 + 生理盐水组	173.39 ± 14.25
GPSM2 低表达 + 吉西他滨组	111.03 ± 6.00 <sup>1,2)</sup>
F	52.985 <sup>3)</sup> 、284.253 <sup>4)</sup> 、3.871 <sup>5)</sup>
P	0.000 <sup>3)</sup> 、0.000 <sup>4)</sup> 、0.073 <sup>5)</sup>

注：1) 与 GPSM2 自然表达 + 吉西他滨组比较， $P=0.000$ ；2) 与 GPSM2 低表达 + 生理盐水组比较， $P=0.003$ ；3) 为吉西他滨主效应对；4) 下调 GPSM2 表达主效应；5) 吉西他滨与下调 GPSM2 表达交互效应

Note: 1)  $P=0.000$  vs. natural GPSM2 expression plus gemcitabine group; 2)  $P=0.003$  vs. low GPSM2 expression plus saline group; 3) Main effect of gemcitabine; 4) Main effect of down-regulating GPSM2 expression; 5) Interaction effect of gemcitabine and down-regulating GPSM2 expression

### 3 讨论

G蛋白偶联受体(G protein coupled receptors, GPCRs)是一类位于细胞膜表面,拥有7个跨膜螺旋结构的蛋白质超家族<sup>[18]</sup>,它是人体细胞内最为重要的信号通路,目前发现其参与了心血管系统、神经系统、代谢系统等多个系统疾病、肿瘤的发生及肿瘤微血管生成,通过抑制GPCR可促进肿瘤血管正常化<sup>[9-10]</sup>。由于是一种信号通路,决定了其作为药物靶点的特性,据报道<sup>[11]</sup>,在已发现的500个药物靶点中,绝大多数属于GPCR。而临床上大约有40%的药物是以GPCR作为靶点<sup>[12-13]</sup>。

GPSM是一类负性调控GPCR的蛋白质家族。早在1996年,Dohlman等<sup>[14]</sup>在酵母中发现GPSM蛋白。目前证实其广泛表达于人体各种组织细胞当中,且都拥有一个高度保守的结构域<sup>[15-16]</sup>。这个结构域是GPSM发挥生物学效应的基础,去掉该结构域将导致GPSM蛋白失去活性。研究<sup>[17]</sup>显示GPSM蛋白是一种G蛋白信号转导负性调控的鸟苷酸酶激活蛋白(GTPase activating proteins, GAPs)。通过与G蛋白偶联受体的G $\alpha$ 亚基结合,显著增加GTP酶的活性(加快达1 000倍),缩短激活的G $\alpha$ -GTP的半衰期,从而抑制G蛋白信号通路,最终产生各种生物效应<sup>[18]</sup>。目前发现GPSM在人体内的表达参与了多种信号通路的调控,并发现与神经性听力损伤、高血压、心脏病等一系列疾病相关<sup>[19-22]</sup>。研究<sup>[23]</sup>显示GPSM与多种恶性肿瘤的发生、发展、转移及耐药形成有关。GPSM的表达产物参与了细胞的有丝分裂过程,通过调控细胞纺锤体的定位,影响细胞有丝分裂的G<sub>2</sub>/S期,进而对肿瘤的发生发展有着重要影响。进一步研究还发现,GPSM的表达与肿瘤血管异常有关<sup>[24-26]</sup>。Hamzah等<sup>[27]</sup>通过研究发现,GPSM5的缺失可促使肿瘤血管正常化,有学者<sup>[28]</sup>提出GPSM通过影响肿瘤血管的正常化降低了肿瘤放疗及免疫治疗的疗效,但是其中的机制并不清楚。我们猜想可能与GPCR信号通路抑制有关。

GPSM分为6个亚组,即GPSM2属于B/R4亚组中的一员<sup>[29]</sup>,在基因人染色体中的定位区域为1q31-1q32,其结构包括5个外显子和4个内含子。其编码的蛋白质包含一个由120个氨基酸组成的高度保守的结构域<sup>[30]</sup>。主要表达与人体细胞膜、细胞质及细胞核<sup>[31]</sup>。目前发现GPSM2在多种恶性肿

瘤组织中呈现高表达。研究<sup>[32-33]</sup>发现GPSM2与前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌的发病有直接关系。但是有关GPSM2在胰腺癌当中的研究较少。

通过前期研究<sup>[34]</sup>,本课题组在胰腺癌组织中检测到GPSM2呈现出明显的高表达,且GPSM2的表达水平还与胰腺癌的TNM分期及肿瘤分化程度相关,进一步研究还发现,高表达的GPSM2促进了胰腺癌细胞的侵袭和迁移能力。但是未对GPSM2与胰腺癌化疗敏感性做相关研究。本研究通过在前期研究所获结果的基础上。通过构建动物模型,以吉西他滨作为处理因素来探讨GPSM2的表达对胰腺癌化疗敏感性的影响。

为了探索GPSM2对胰腺癌化疗敏感性的影响,本研究通过构建GPSM2敲低表达和自然高表达的胰腺癌裸鼠模型来探索这一问题,首先笔者根据前期研究的成果,发现在胰腺癌的众多细胞株中,MIA-PaCa-2细胞株中GPSM2的表达量明显较其他细胞株高,所以构建GPSM2敲低表达慢病毒载体转染MIA-PaCa-2细胞株得到GPSM2下调表达的稳转胰腺癌细胞株(GPSM2 homo 1211转染的MIA-PaCa-2细胞株),通过检测比较两组细胞株中mRNA的表达水平来鉴定GPSM2下调表达稳转细胞株是否构建成功,本研究通过RT-PCR技术测得下调表达的稳转胰腺癌细胞株(GPSM2 homo 1211转染的MIA-PaCa-2细胞株)的表达水平明显较MIA-PaCa-2细胞株低,表明GPSM2下调表达细胞株构建成功。然后分别选用下调表达的稳转胰腺癌细胞株(GPSM2 homo 1211转染的MIA-PaCa-2细胞株)和MIA-PaCa-2细胞株,构建裸鼠成瘤模型。结果显示:成功构建了GPSM2下调表达的稳转胰腺癌细胞株。多因素析因设计方差分析肿瘤化疗敏感性实验结果显示:(1)吉西他滨对于抑制裸鼠瘤体生长的主效应具有明显意义( $P=0.000$ ),表明吉西他滨对于裸鼠瘤体的生长具有明显的抑制作用。(2)下调GPSM2基因表达对于抑制裸鼠瘤体生长的主效应具有明显意义( $P=0.000$ ),表明抑制GPSM2基因的表达对裸鼠瘤体的生长具有抑制作用。(3)注射吉西他滨与抑制GPSM2基因表达对于抑制裸鼠瘤体生长的交互效应尚未达到明显统计学意义( $P=0.073$ ),表明本研究过程中,抑制GPSM2基因的表达对于增强吉西他滨化疗敏感性尚不明显。但单因素方差分析将实验注射组裸鼠瘤体体积大小分别与

对照注射组、实验未注射组比较均有明显差异 ( $P=0.000$ 、 $0.003$ ), 说明通过抑制GPSM2基因表达的同时予以化疗对于裸鼠瘤体生长的抑制作用较单独抑制GPSM2基因表达和单独化疗更为有效。通过分析和讨论有关实验设计原理、实施方案以及相关统计学结果, 并查阅相关文献。笔者认为在本研究的过程中, 裸鼠模型的样本数量、裸鼠情况及吉西他滨注射剂量可能对于实验结果的偏差产生了一定影响, 使本研究未达到预期成果。根据本研究结果, 得出以下结论: (1) 抑制GPSM2基因的表达对胰腺癌细胞生长具有抑制作用。(2) 抑制GPSM2基因表达对于增强胰腺癌细胞化疗敏感性的作用尚未具有明显意义, 但通过抑制GPSM2基因表达的同时予以化疗对于抑制胰腺癌细胞生长的效果较单独抑制GPSM2基因表达和单独化疗更为有效, 对于增加胰腺癌的化疗疗效同样具有明显的作用。通过检测胰腺癌组织中GPSM2的表达可能成为增加胰腺癌患者化疗疗效的重要指标, 并以GPSM2作为靶点, 设计针对GPSM2的靶向治疗药物, 有望改善胰腺癌患者的治疗效果。

后续研究将扩大动物模型样本数量、采用不同吉西他滨注射剂量以及构建耐药动物模型, 并通过细胞学实验和相关分子生物学实验来进一步验证GPSM2的表达对胰腺癌化疗敏感性的影响。

## 参考文献

- [1] 潘博, 郭俊超, 廖泉, 等. 吉西他滨与胰腺癌化疗耐药[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2005, 12(5):530-532. doi:10.3969/j.issn.1007-9424.2005.05.037.
- [2] Pan B, Guo JC, Liao Q, et al. Mechanism of Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer Chemotherapy[J]. Chinese Journal of Bases and Clinics in General Surgery, 2005, 12(5):530-532. doi:10.3969/j.issn.1007-9424.2005.05.037.
- [3] Zhang Q, Zeng L, Chen Y, et al. Pancreatic Cancer Epidemiology, Detection, and Management[J]. Gastroenterol Res Pract, 2016, 2016:8962321. doi: 10.1155/2016/8962321.
- [4] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1):7-30. doi: 10.3322/caac.21332.
- [5] Dragovich T, Burris HR, Loehrer P, et al. Gemcitabine plus celecoxib in patients with advanced or metastatic pancreatic adenocarcinoma: results of a phase II trial[J]. Am J Clin Oncol, 2008, 31(2):157-162. doi: 10.1097/COC.0b013e31815878c9.
- [6] 魏彪, 张建新, 崔磊, 等. GPSM2过表达对人胰腺癌细胞迁移能力的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2017, 26(3):311-316. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.03.007.
- [7] Wei B, Zhang JX, Cui L, et al. Effects of GPSM2 over-expression on migration ability of human pancreatic cancer cells[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2017, 26(3):311-316. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.03.007.
- [8] 王磊, 沈泽天, 朱锡旭. 吉西他滨对人胰腺癌裸鼠移植瘤的放疗增敏作用[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(9):1701-1704. doi:10.3969/j.issn.1672-4992.2010.09.09.
- [9] Wang L, Shen ZT, Zhu XX. The radioenhancement effect of gemcitabine on human pancreatic cancer graft in nude mice[J]. Journal of Modern Oncology, 2010, 18(9):1701-1704. doi:10.3969/j.issn.1672-4992.2010.09.09.
- [10] 陈志高. 肿瘤疾病动物模型选择及制作技术规范的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2006:1-45.
- [11] Chen ZG. Selection of animal models for cancer and the technology[D]. Beijing: China Agricultural University, 2006:1-45.
- [12] Lagerström MC, Schiöth HB. Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery[J]. Nat Rev Drug Discov, 2008, 7(4):339-357. doi: 10.1038/nrd2518.
- [13] 吴子彦. G蛋白偶联受体激酶5 (GRK5) 在血管新生中的作用及机制研究[D]. 上海: 复旦大学, 2011:1-86.
- [14] Wu ZY. Effect of G-protein-coupled receptor 5 (GRK5) on angiogenesis and the mechanism[D]. Shanghai: Fudan University, 2011:1-86.
- [15] Armulik A, Abramsson A, Betsholtz C. Endothelial/pericyte interactions[J]. Circ Res, 2005, 97(6):512-523.
- [16] Overington JP, Al-Lazikani B, Hopkins A L. How many drug targets are there?[J]. Nat Rev Drug Discov, 2006, 5(12):993-996.
- [17] Zhang R, Xie X. Tools for GPCR drug discovery[J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(3):372-384. doi: 10.1038/aps.2011.173.
- [18] Sun J, Singh V, Kajino-Sakamoto R, et al. Neuronal GPCR controls innate immunity by regulating noncanonical unfolded protein response genes[J]. Science, 2011, 332(6030):729-732. doi: 10.1126/science.1203411.
- [19] Dohlman HG, Thorner J. RGS proteins and signaling by heterotrimeric G proteins[J]. J Biol Chem, 1997, 272(7):3871-3874.
- [20] Berman DM, Gilman AG. Mammalian RGS proteins: barbarians at the gate[J]. J Biol Chem, 1998, 273(3):1269-1272.
- [21] Wieland T, Chen CK. Regulators of G-protein signalling: a novel protein family involved in timely deactivation and desensitization of signalling via heterotrimeric G proteins[J]. Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol, 1999, 360(1):14-26.
- [22] McCudden CR, Willard FS, Kimple RJ, et al. G alpha selectivity and inhibitor function of the multiple GoLoco motif protein GPSM2/LGN[J]. Biochim Biophys Acta, 2005, 1745(2):254-264.
- [23] 杜延顺, 秉仁. 蛋白信号调节因子的结构分类和功能[J]. 理科学

- 进展, 2005, 6(3):215–219.
- Du YS, Bing R. The Structure, Classification and Function of RGS Proteins[J]. Progress in Physiological Sciences, 2005, 6(3):215–219.
- [19] Bhonker Y, Abu-Rayyan A, Ushakov K, et al. The GPSM2/LGN GoLoco motifs are essential for hearing[J]. Mamm Genome, 2016, 27(1/2):29–46. doi: 10.1007/s00335-015-9614-7.
- [20] Yariz KO, Walsh T, Akay H, et al. A truncating mutation in GPSM2 is associated with recessive non-syndromic hearing loss[J]. Clin Genet, 2012, 81(3):289–293. doi: 10.1111/j.1399-0004.2011.01654.x.
- [21] Osei-Owusu P, Blumer KJ. Regulator of G Protein Signaling 2: A Versatile Regulator of Vascular Function[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2015, 133:77–92. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.02.001.
- [22] Zhang P, Mende U. Functional role, mechanisms of regulation, and therapeutic potential of regulator of G protein signaling 2 in the heart[J]. Trends Cardiovasc Med, 2014, 24(2):85–93. doi: 10.1016/j.tcm.2013.07.002.
- [23] Dima SO, Tanase C, Albuiescu R, et al. An exploratory study of inflammatory cytokines as prognostic biomarkers in patients with ductal pancreatic adenocarcinoma[J]. Pancreas, 2012, 41(7):1001–1007. doi: 10.1097/MPA.0b013e3182546e13.
- [24] Cho H, Park C, Hwang IY, et al. Rgs5 targeting leads to chronic low blood pressure and a lean body habitus[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(8):2590–2597. doi: 10.1128/MCB.01889-07.
- [25] Li J, Adams LD, Wang X, et al. Regulator of G protein signaling 5 marks peripheral arterial smooth muscle cells and is downregulated in atherosclerotic plaque[J]. J Vasc Surg, 2004, 40(3):519–528.
- [26] Berger M, Bergers G, Arnold B, et al. Regulator of G-protein signaling-5 induction in pericytes coincides with active vessel remodeling during neovascularization[J]. Blood, 2005, 105(3):1094–1101.
- [27] Hamzah J, Jugold M, Kiessling F, et al. Vascular normalization in Rgs5-deficient tumours promotes immune destruction[J]. Nature, 2008, 453(7193):410–414. doi: 10.1038/nature06868.
- [28] 谭叶, 丁晓, 陆海军, 等. RGS5在肿瘤抗血管生成的研究进展[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2014, 8(8):1549–1552. doi:10.3969/cma.j.issn.1674-0785.2014.08.033.
- Tan Y, Ding X, Lu HJ, et al. View of antiangiogenesis of regulator of G protein signaling 5 in tumor[J]. Chinese Journal of Clinicians: Electronic Edition, 2014, 8(8):1549–1552. doi:10.3969/cma.j.issn.1674-0785.2014.08.033.
- [29] Zheng B, De Vries L, Gist FM. Divergence of RGS proteins: evidence for the existence of six mammalian RGS subfamilies[J]. Trends Biochem Sci, 1999, 24(11):411–414.
- [30] Nguyen CH, Ming H, Zhao P, et al. Translational control by RGS2[J]. J Cell Biol, 2009, 186(5):755–765. doi: 10.1083/jcb.200811058.
- [31] Heximer SP, Lim H, Bernard JL, et al. Mechanisms governing subcellular localization and function of human RGS2[J]. J Biol Chem, 2001, 276(17):14195–14203.
- [32] Han ZS, Ju G. Effects of electrical stimulation of the central nucleus of the amygdala and the lateral hypothalamic area on the oval nucleus of the bed nuclei of the stria terminalis and its adjacent areas in the rat[J]. Brain Res, 1990, 536(1/2):56–62.
- [33] Bhat K, Wang F, Ma Q, et al. Advances in biomarker research for pancreatic cancer[J]. Curr Pharm Des, 2012, 18(17):2439–2451.
- [34] 彭云, 崔磊, 史坚强, 等. G蛋白信号调节蛋白2在胰腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 江苏大学学报: 医学版, 2016, 26(3):231–234. doi:10.13312/j.issn.1671-7783.y160054.
- Peng Y, Cui L, Shi JQ, et al. Expression of G-protein signaling modulator 2 in pancreatic cancer tissues[J]. Journal of Jiangsu University: Medicine Edition, 2016, 26(3):231–234. doi:10.13312/j.issn.1671-7783.y160054.

( 本文编辑 宋涛 )

本文引用格式: 郑伟, 张建新, 谭克, 等. 下调G蛋白信号调控因子2表达对胰腺癌细胞化疗敏感性的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2018, 27(3):321–327. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.03.009

Cite this article as: Zheng W, Zhang JX, Tan K, et al. Effect of down-regulating G protein signal regulating protein 2 expression on chemotherapy sensitivity of pancreatic cancer cells[J]. Chin J Gen Surg, 2018, 27(3):321–327. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.03.009